



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109298173 A

(43)申请公布日 2019. 02. 01

(21)申请号 201811095708.4

(22)申请日 2018.09.19

(71)申请人 南京金域医学检验所有限公司

地址 210000 江苏省南京市高新技术产业
开发区药谷大道11号加速器二期01栋

(72)发明人 张娣 夏玲芝 袁杭 毛源 曹鹏
郑伟

(74)专利代理机构 广州新诺专利商标事务所有
限公司 44100

代理人 李海恬

(51)Int.Cl.

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/58(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/564(2006.01)

权利要求书1页 说明书5页 附图1页

(54)发明名称

免疫荧光项目混合质控品及其制备方法和
应用

(57)摘要

本发明涉及一种免疫荧光项目混合质控品及其制备方法和应用,属于生物检测技术领域。该免疫荧光项目混合质控品主要由作为阳性抗体的抗核抗体、抗线粒体抗体和抗中性粒细胞胞浆抗体组成。将这三种抗体混合配制阳性混合质控,不会产生相互影响及干扰,具有作为混合质控品的可行性,且稳定性良好,可用于临床实验室的日常质量控制使用,既方便操作又节约成本。

1. 一种免疫荧光项目混合质控品,其特征在于,主要由作为阳性抗体的抗核抗体、抗线粒体抗体和抗中性粒细胞胞浆抗体组成。

2. 根据权利要求1所述的免疫荧光项目混合质控品,其特征在于,所述抗核抗体、抗线粒体抗体和抗中性粒细胞胞浆抗体的滴度比为100:90-220:13-33。

3. 根据权利要求2所述的免疫荧光项目混合质控品,其特征在于,所述抗核抗体、抗线粒体抗体和抗中性粒细胞胞浆抗体的滴度比为100:90-110:13-16。

4. 根据权利要求1-3任一项所述的免疫荧光项目混合质控品,其特征在于,所述混合质控品由含有抗核抗体、抗线粒体抗体和抗中性粒细胞胞浆抗体的阳性人血清混合配制。

5. 权利要求1-4任一项所述的免疫荧光项目混合质控品的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

阳性血清准备:分别取含抗核抗体、抗线粒体抗体和抗中性粒细胞胞浆抗体的各单项阳性人血清,检测各抗体浓度,备用;

配制混合质控品:按照预定配比,分别量取含抗核抗体、抗线粒体抗体和抗中性粒细胞胞浆抗体的各单项强阳性血清混合,配制得到所述混合质控品。

6. 根据权利要求5所述的免疫荧光项目混合质控品的制备方法,其特征在于,所述阳性血清准备步骤中,所述含抗核抗体单项阳性人血清中抗核抗体的滴度为1:90-1:110,所述含抗线粒体抗体单项阳性人血清中抗线粒体抗体的滴度为1:90-1:110,所述含抗中性粒细胞胞浆抗体单项阳性人血清中抗中性粒细胞胞浆抗体的滴度为1:8-1:12;

所述配制混合质控品步骤中,所述含抗核抗体、抗线粒体抗体和抗中性粒细胞胞浆抗体的各单项强阳性血清的体积比为1:0.9-1.1:1.3-1.7。

7. 根据权利要求5所述的免疫荧光项目混合质控品的制备方法,其特征在于,选取无溶血、脂血,且无肉眼可见杂质的各单项阳性人血清。

8. 权利要求1-4任一项所述的免疫荧光项目混合质控品在自身免疫抗体检测中的应用。

9. 根据权利要求8所述的应用,其特征在于,所述自身免疫抗体检测为检测抗核抗体、检测抗线粒体抗体和检测抗中性粒细胞胞浆抗体中的至少一种。

10. 权利要求1-4任一项所述的免疫荧光项目混合质控品的保存方法,其特征在于,将所述混合质控品冻存于-22℃~-18℃。

免疫荧光项目混合质控品及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及生物检测技术领域,特别是涉及一种免疫荧光项目混合质控品及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 质量控制是保证实验室检测结果准确可靠的重要措施,而室内质控品是质量控制体系必不可少的环节。合适的质控品可以用来监控实验室的检测仪器、试剂、标准物质等实验条件组成的检测系统是否稳定,可以保证检测结果的准确可靠,从而做好基本职业卫生服务工作。

[0003] 临床上自身免疫疾病的诊断通常是通过自身抗体的检测来提供循证医学的依据。而自身免疫抗体检测的很多项目是通过免疫荧光的方法进行的,免疫荧光的方法具有灵敏度高、特异性强的优点,但免疫荧光的缺点是可能出现高背景、易淬灭的特点。因此,通过稳定的室内质控品能有效监控其实验结果的可靠性。

[0004] 同时自身免疫项目一般需要多种自身抗体项目一起检测,以提高自身免疫疾病诊断的敏感性,所以自身免疫混合质控品对自身免疫疾病的项目检测是一种非常方便且能提供结果保障的有效工具。根据《医疗机构临床实验室管理办法》的要求,提供给临床的检验项目都应该开展室内质量控制,国家卫生计生委发布的临床检验的十五项质控指标,对室内质控的开展率提出了明确的要求。

[0005] 但限于市场上没有商品化的质控品供应,仅很少的项目有进口质控品,但是价格昂贵,限制了临床使用,导致目前临床实验室自身抗体检测项目室内质控开展率不高。

发明内容

[0006] 基于此,有必要针对上述问题,提供一种免疫荧光项目混合质控品,该混合质控品可在临床实验室的日常质量控制中使用,既方便操作又节约成本。

[0007] 一种免疫荧光项目混合质控品,主要由作为阳性抗体的抗核抗体、抗线粒体抗体和抗中性粒细胞胞浆抗体组成。

[0008] 本发明人通过收集日常实验室检测出的不同自身免疫项目强阳性的标本和阴性标本进行混合质控品的制备,并进行动态观察分析,最终得到上述免疫荧光项目混合质控品,将抗核抗体、抗线粒体抗体和抗中性粒细胞胞浆抗体等三种抗体混合配制,其不会产生相互影响及干扰,具有作为混合质控品的可行性,且稳定性良好,可在临床实验室的日常质量控制中作为质控品使用。

[0009] 在其中一个实施例中,所述抗核抗体、抗线粒体抗体和抗中性粒细胞胞浆抗体的滴度比为100:90-220:13-33。将三种抗体按照上述比例配合,具有较好的阳性质控效果。

[0010] 在其中一个实施例中,所述抗核抗体、抗线粒体抗体和抗中性粒细胞胞浆抗体的滴度比为100:90-110:13-16。将三种抗体按照上述比例配合,既有较好的弱阳性质控效果,又具有较好的实用性和较低的成本。

[0011] 在其中一个实施例中,所述混合质控品由含有抗核抗体、抗线粒体抗体和抗中性粒细胞胞浆抗体的阳性人血清混合配制。质控品的组成应该尽可能的与人类自身物质保持一致,直接以含抗体的阳性人血清配制,质控品中基质成分为人血清,最大化还原检测样本环境,具有较好的质控效果。

[0012] 本发明还公开了上述的免疫荧光项目混合质控品的制备方法,包括以下步骤:

[0013] 阳性血清准备:分别取含抗核抗体、抗线粒体抗体和抗中性粒细胞胞浆抗体的各单项阳性人血清,检测各抗体浓度,备用;

[0014] 配制混合质控品:按照预定配比,分别量取含抗核抗体、抗线粒体抗体和抗中性粒细胞胞浆抗体的各单项强阳性血清混合,配制得到所述混合质控品。

[0015] 上述制备方法步骤简单,操作方便,可供各实验室参照制备。

[0016] 在其中一个实施例中,所述阳性血清准备步骤中,所述含抗核抗体单项阳性人血清中抗核抗体的滴度为1:90-1:110,所述含抗线粒体抗体单项阳性人血清中抗线粒体抗体的滴度为1:90-1:110,所述含抗中性粒细胞胞浆抗体单项阳性人血清中抗中性粒细胞胞浆抗体的滴度为1:8-1:12;所述配制混合质控品步骤中,所述含抗核抗体、抗线粒体抗体和抗中性粒细胞胞浆抗体的各单项强阳性血清的体积比为1:0.9-1.1:1.3-1.7。

[0017] 在其中一个实施例中,选取无溶血、脂血,且无肉眼可见杂质的各单项阳性人血清。以避免不良状态的血清对检测过程造成的影响。

[0018] 本发明还公开了上述的免疫荧光项目混合质控品在自身免疫抗体检测中的应用。

[0019] 在其中一个实施例中,所述自身免疫抗体检测为检测抗核抗体、检测抗线粒体抗体和检测抗中性粒细胞胞浆抗体中的至少一种。

[0020] 本发明还公开了上述的免疫荧光项目混合质控品的保存方法,将所述混合质控品冻存于-22℃~-18℃。将混合质控品冻存于-22℃~-18℃,稳定时间超过20周。

[0021] 与现有技术相比,本发明具有以下有益效果:

[0022] 本发明的一种免疫荧光项目混合质控品,是本发明人通过收集日常实验室检测出的不同自身免疫项目强阳性的标本和阴性标本进行混合质控品的制备并进行动态观察分析后,通过反复试验筛选和摸索,才能最终得到,将抗核抗体、抗线粒体抗体和抗中性粒细胞胞浆抗体等三种抗体混合配制的混合质控品,不会产生相互影响及干扰,具有作为混合质控品的可行性,且稳定性良好,可用于临床实验室的日常质量控制使用。

[0023] 本发明的一种免疫荧光项目混合质控品的制备方法,具有步骤简单,操作方便的优点,可广泛推广,供各实验室参照制备。

附图说明

[0024] 图1为实施例1中p-ANCA弱阳性示意图;

[0025] 图2为实施例1中AKA临界值示意图;

[0026] 图3为实施例1中ANA弱阳性示意图;

[0027] 图4为实施例1中AMA弱阳性示意图。

具体实施方式

[0028] 为了便于理解本发明,下面将参照相关附图对本发明进行更全面的描述。附图中

给出了本发明的较佳实施例。但是,本发明可以以许多不同的形式来实现,并不限于本文所描述的实施例。相反地,提供这些实施例的目的是使对本发明的公开内容的理解更加透彻全面。

[0029] 除非另有定义,本文所使用的所有的技术和科学术语与属于本发明的技术领域的技术人员通常理解的含义相同。本文中在本发明的说明书中所使用的术语只是为了描述具体的实施例的目的,不是旨在于限制本发明。

[0030] 实施例1

[0031] 一、样品收集。

[0032] 收集抗核抗体(antinuclear antibodies,ANA)、抗线粒体抗体(antinuclear antibodies,AMA)、抗角蛋白抗体(antikeratin antibody,AKA),抗中性粒细胞胞浆抗体(antineutrophil cytoplasm antibodies,p-ANCA)各单项强阳性人血清,要求收集的血清无溶血、脂血,且无肉眼可见的杂质。

[0033] 采用间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence,IIF),并以抗核抗体IgG检测试剂盒(FA 1510-2010-1,欧蒙)、抗中性粒细胞胞浆/抗肾小球基底膜抗体IgG检测试剂盒(FA 1201-1010-13,欧蒙)、抗线粒体抗体IgAGM检测试剂盒(FA 1620-1010-1P,欧蒙)、抗角蛋白抗体检测试剂盒(FA 1503-1010,欧蒙)检测其中抗体浓度。

[0034] 其中,抗核抗体的滴度为1:100,抗线粒体抗体的滴度为1:100,抗角蛋白抗体的滴度为1:10,抗中性粒细胞胞浆抗体的滴度为1:10。

[0035] 二、混合配制并检测。

[0036] 将上述各单项强阳性人血清按下表1的体积比例混合。

[0037] 随后采用上述试剂盒,按照各项目试剂说明书要求的检测流程进行检测,具体流程如下。

[0038] 步骤1:取混合质控品,按照各检测项目的要求,以磷酸盐缓冲液(PBS)稀释,与相应项目的生物薄片室温孵育30min;

[0039] 步骤2用烧杯盛PBS流水冲洗载片1秒钟后浸泡十分钟PBS加荧光素-标记抗人球蛋白孵育30min;

[0040] 步骤3重复步骤2中用烧杯盛PBS流水冲洗载片1秒钟后浸泡十分钟,然后封片即可。

[0041] 检测结果运用OLYMPUS荧光显微镜进行观测,为避免检测人员肉眼判读的误差本实验室采用双人阅片的方式确认最终结果。

[0042] 为确保检测结果的准确可靠性,检测试验需注意:开始试验前,将所有试剂置于室温;每一种试剂都是经过批号验证以保证最佳的检测结果;在储存及孵育过程中避免将试剂暴露在强光中;试剂避免受到微生物的污染;每次实验均用之前检测确定的阴阳性样本同时测定作为质控。如果阳性样本不出现特异性荧光模型,或阴性样本出现清晰的特异性荧光,则实验结果不可用,实验重做。

[0043] 表1复合质控品体积混合比例表

	加样比例	结果			
		ANA	AMA	AKA	p-ANCA
[0044]	1:1:1:1	弱阳性	临界值	临界值	弱阳性
	1:2:1:1	弱阳性	弱阳性	临界值	临界值
	1:2:2:1	弱阳性	弱阳性	临界值	临界值
	1:2:2:2	弱阳性	弱阳性	临界值	临界值
	1:2:3:1	弱阳性	弱阳性	临界值	临界值
	1:2:3:3	弱阳性	弱阳性	临界值	弱阳性
	1:2:4:3	弱阳性	弱阳性	临界值	弱阳性
	1:1.5:3:1.5	弱阳性	阳性	阴性	弱阳性
	1:1:3:1.5	弱阳性	弱阳性	临界值	弱阳性

[0045] 其中：加样比例为各单项血清体积之比，顺序为ANA:AMA:AKA:p-ANCA。

[0046] 阳性指荧光强烈；弱阳性指荧光明显；临界值指荧光若隐若现；阴性指基质片上未有荧光。

[0047] 其中，图1为p-ANCA项目弱阳性示意图，图a为乙醇基质，图b为甲醛基质，c为hep-2细胞基质；图2为AKA项目临界值示意图，为大鼠食管基质；图3为ANA项目弱阳性示意图，图a为hep-2细胞基质，图b为猴肝组织基质；图4为AMA项目弱阳性示意图，图a为鼠胃组织基质，图b为鼠肾组织基质；

[0048] 从上述结果中可以看出，无论采取何种比例配制，AKA抗体检测结果均为临界值或阴性，说明并非所有自身抗体均适合配制混合质控品。

[0049] 当采用1:2:3:3、1:2:4:3、1:1.5:3:1.5及1:1:3:1.5比例配制时，荧光项目复合室内质控品中，ANA、AMA和p-ANCA均测定为弱阳性或阳性。综合考虑后，选择ANA:AMA:p-ANCA为1:1:1.5为最优配制比例，作为三项自身抗体的复合质控。

[0050] 实施例2

[0051] 按照实施例1的结果，以实施例1中收集的单项强阳性人血清，选择ANA、AMA和p-ANCA加样体积比例为1:1:1.5的混合质控品进行稳定性实验。

[0052] 将上述制备得到的混合质控品进行高压灭菌(121℃30min)处理之后进行分装为30支，每支分装体积为300μl，保存于-20℃，检测其稳定性。每周检测一次，连续检测20周，检测之前30分钟将分装混合质控品取出复融。

[0053] 检测结果运用OLYMPUS荧光显微镜进行观测。为避免检测人员肉眼判读的误差本实验室采用双人阅片的方式确认最终结果，结果如下表所示。

[0054] 表2混合质控品稳定性的检测结果

	周次	ANA	AMA	pANCA
[0055]	第一周	弱阳性	弱阳性	弱阳性
	第二周	弱阳性	弱阳性	弱阳性
	第三周	弱阳性	弱阳性	弱阳性
	第四周	弱阳性	弱阳性	弱阳性
	第五周	弱阳性	弱阳性	弱阳性
	第六周	弱阳性	弱阳性	弱阳性
	第七周	弱阳性	弱阳性	弱阳性
	第八周	弱阳性	弱阳性	弱阳性
	第九周	弱阳性	弱阳性	弱阳性
	第十周	弱阳性	弱阳性	弱阳性
	第十一周	弱阳性	弱阳性	弱阳性
[0056]	第十二周	弱阳性	弱阳性	弱阳性
	第十三周	弱阳性	弱阳性	弱阳性
	第十四周	弱阳性	弱阳性	弱阳性
	第十五周	弱阳性	弱阳性	弱阳性
	第十六周	弱阳性	弱阳性	弱阳性
	第十七周	弱阳性	弱阳性	弱阳性
	第十八周	弱阳性	弱阳性	弱阳性
	第十九周	弱阳性	弱阳性	弱阳性
	第二十周	弱阳性	弱阳性	弱阳性

[0057] 从上述结果可以看出,上述混合质控品在20周内稳定性好,可在临床实验室的日常质量控制中作为质控品使用,具有操作方便的优点。

[0058] 以上所述实施例的各技术特征可以进行任意的组合,为使描述简洁,未对上述实施例中的各个技术特征所有可能的组合都进行描述,然而,只要这些技术特征的组合不存在矛盾,都应当认为是本说明书记载的范围。

[0059] 以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式,其描述较为具体和详细,但并不能因此而理解为对发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。因此,本发明的保护范围应以所附权利要求为准。

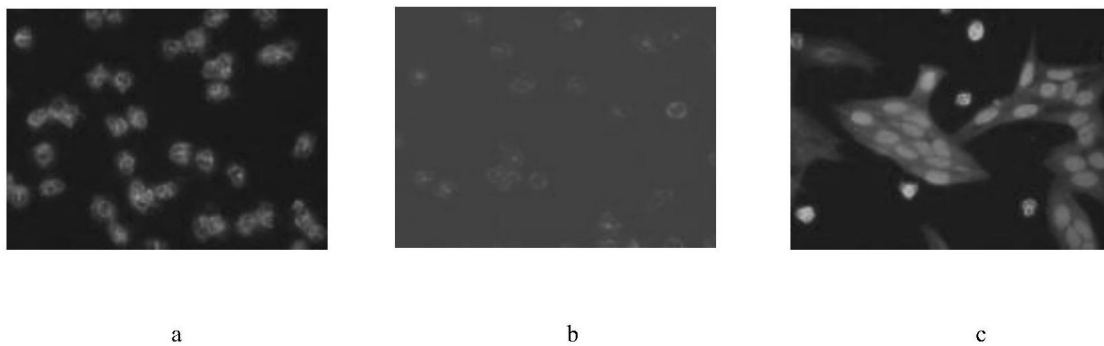


图1

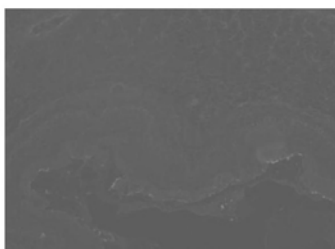


图2

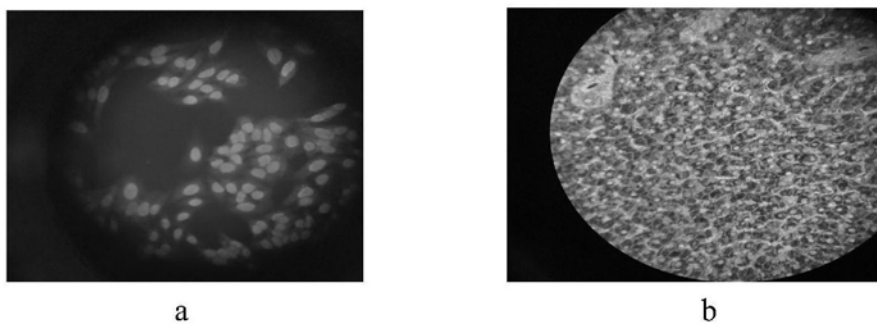


图3

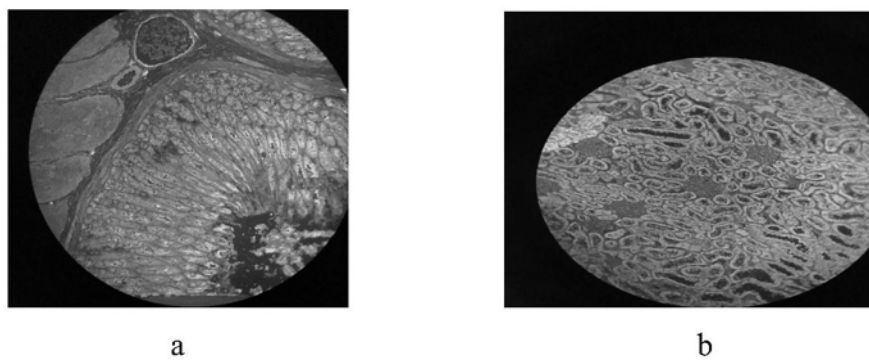


图4

专利名称(译)	免疫荧光项目混合质控品及其制备方法和应用		
公开(公告)号	CN109298173A	公开(公告)日	2019-02-01
申请号	CN201811095708.4	申请日	2018-09-19
[标]申请(专利权)人(译)	南京金域医学检验所有限公司		
申请(专利权)人(译)	南京金域医学检验所有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	南京金域医学检验所有限公司		
[标]发明人	张娣 夏玲芝 袁杭 毛源 曹鹏 郑伟		
发明人	张娣 夏玲芝 袁杭 毛源 曹鹏 郑伟		
IPC分类号	G01N33/533 G01N33/58 G01N33/68 G01N33/564		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/564 G01N33/582 G01N33/6854 G01N2800/24		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种免疫荧光项目混合质控品及其制备方法和应用，属于生物检测技术领域。该免疫荧光项目混合质控品主要由作为阳性抗体的抗核抗体、抗线粒体抗体和抗中性粒细胞胞浆抗体组成。将这三种抗体混合配制阳性混合质控，不会产生相互影响及干扰，具有作为混合质控品的可行性，且稳定性良好，可用于临床实验室的日常质量控制使用，既方便操作又节约成本。

加样比例	结果			
	ANA	AMA	AKA	p-ANCA
1:1:1:1	弱阳性	临界值	临界值	弱阳性
1:2:1:1	弱阳性	弱阳性	临界值	临界值
1:2:2:1	弱阳性	弱阳性	临界值	临界值
1:2:2:2	弱阳性	弱阳性	临界值	临界值
1:2:3:1	弱阳性	弱阳性	临界值	临界值
1:2:3:3	弱阳性	弱阳性	临界值	弱阳性
1:2:4:3	弱阳性	弱阳性	临界值	弱阳性
1:1.5:3:1.5	弱阳性	阳性	阴性	弱阳性
1:1:3:1.5	弱阳性	弱阳性	临界值	弱阳性